

# 九州シンクロトロン光研究センター 県有ビームライン利用報告書

課題番号：2109105R

BL番号：BL11

(様式第5号)

## ヒト皮膚角層ラメラ構造の高輝度 X 線による構造解析 X-ray structural analysis of human skin stratum corneum lamellar structure

徳留嘉寛<sup>1)</sup>、横田麻美<sup>2)</sup>、愛原咲季<sup>2)</sup>

Yoshihiro Tokudome, Mami Yokota, Saki Aihara

1) 佐賀大学リージョナル・イノベーションセンター、2) ファンケル研究所

<sup>1)</sup>Regional Innovation Center, Saga University,

<sup>2)</sup>Research Institute, FANCL Corporation

- ※1 先端創生利用（長期タイプ）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後2年以内に研究成果公開（論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表）が必要です（トライアル利用を除く）。
- ※3 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※4 共著者には実験参加者をご記載ください（各実験参加機関より1人以上）。

### 1. 概要（注：結論を含めて下さい）

本課題では、角層の長周期ラメラ構造、短周期ラメラ構造、炭化水素鎖のパッキング構造（直方晶、六方晶）の割合、ケラチン構造の推察などが佐賀県立九州シンクロトロン光研究センターで行うことができるのかの確認を、皮膚摘出角層を用いて行うことを目的とした。BL11で、カメラ長、照射時間などの条件検討を行った結果、角層細胞間脂質に特徴的なラメラ構造、充填構造に帰属されるピークが検出された。しかし、ケラチン構造の領域は今回の条件では観察できなかった。九州シンクロトロン光研究センターBL11で角層構造解析ができることが示唆される結果が得られた。

In this project, we aimed to confirm whether the long-period lamellar structure, short-period lamellar structure, the ratio of packing structures of hydrocarbon chains, and the keratin structure of the stratum corneum can be inferred at the BL11 using stratum corneum excised from skin. As a result of examining the conditions such as camera length and irradiation time at BL11, peaks attributed to lamellar and packing structures characteristic of intercellular lipids in stratum corneum were detected. However, the region of keratin structure could not be observed under the present conditions. The results suggest that stratum corneum structure can be analyzed by BL11 at Saga light source.

### 2. 背景と目的

皮膚の最外層に存在する角層は角質細胞と角層細胞間脂質からなり、皮膚バリア機能を有する。皮膚バリア機能には角層細胞間脂質（セラミド、コレステロール、脂肪酸などを含む）の含量と配列構造（ラメラ構造、充填構造）が重要であることが多くの研究者から報告されている。このセラミドを始めとするラメラ構造の観察に高輝度 X 線が使用されている。申請者らも以前より SPring-8 の BL40B2 を利用し、角層ラメラ構造、炭化水素鎖充填構造の変化を観察してきた。

申請者は、2021年4月より佐賀大学に採用され、化粧品や皮膚科学研究を引き続き行うこととなり、佐賀県立九州シンクロトロン光研究センターの利用を希望している。ここで SPring-8 での検討と同様の検討ができると、佐賀県産の素材評価や、佐賀大学での研究が大きく進むことが推察される。そのため、本課題では、佐賀県立九州シンクロトロン光研究センターで、角層の長周期ラメラ構造、短周期ラメラ構造、炭化水素鎖のパッキング構造（直方晶、六方晶）の割合、ケラチン構造の推察な

どが可能かを、皮膚摘出角層を用いて行うことを目的とした。

### 3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

試験にはヒト全層皮膚を倫理的配慮のもと用いた。皮膚をDispase I 処理により表皮をシート状に単離後、Trypsin処理により細胞を除き、角層シートを作成した。得られたシートを乾燥させた後、室温95%RH下で1週間以上インキュベートした。角層を直径2 mmのリンデマンガラスキャピラリーに封入し、九州シンクロトロン光研究センターのBL11にて測定した。

ベヘン酸銀の粉末試料を用いてキャリブレーションを行い、カメラ角度、カメラ距離、ビームセンターを算出した。小角側はカメラ長1000 mmもしくは2000 mmにて露光時間360秒、また、2000 mmで露光時間を60, 180, 360とし測定した。広角側はカメラ長70 mm、200 mmにて露光時間180秒で測定した。また、カメラ長を200 mmに固定し、露光時間を10, 60, 180, 360秒としても測定した。得られた二次元散乱像をFit 2d (ESRF提供) で一次元化後、サンプルの値より空のキャピラリーの値を差し引き、入射X線強度で補正したものをMicrosoft Excelでグラフ化した。

### 4. 実験結果と考察

広角領域 ( $q=15\sim 17\text{ nm}^{-1}$  付近、充填構造としては  $0.42, 0.37\text{ nm}$ ) のピーク観察をするためにカメラ長を70 mmまたは200 mmとした。結果を図1に示す。カメラ長1000 mmとした場合に目的ピーク ( $q=15\sim 17\text{ nm}^{-1}$ ) がブロードとなったが、その詳細は不明である。一方、カメラ長2000 mmとした場合に強度が負の値を示した。その理由は不明ではあるが、バックグラウンド (BG) 補正に使用したデータの数値が大きかったので結果として負の値となった可能性がある。

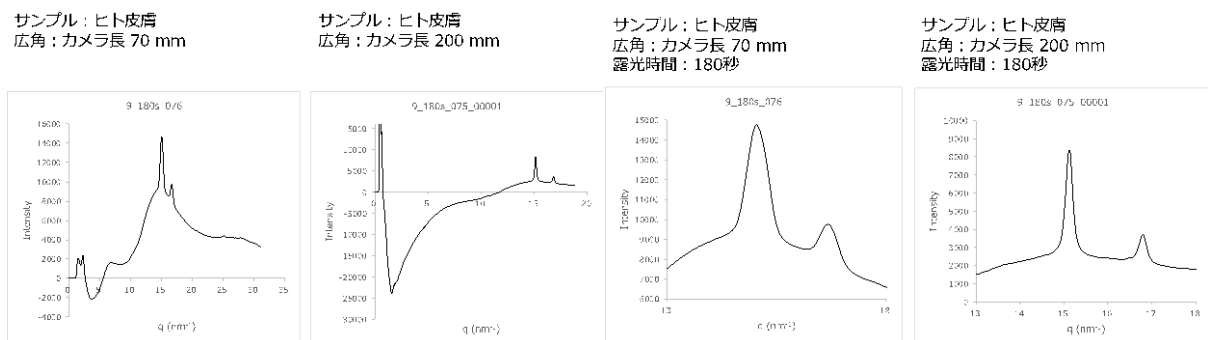


図1 角層のX線照射プロファイル（全体像・左図）、（拡大図・右図）

カメラ長2000 mmで露光時間の変更を行った。その結果、今回検討したすべての露光時間でピーク形状はほぼ同程度であった（図2）。

サンプル：ヒト皮膚  
広角：カメラ長 200 mm

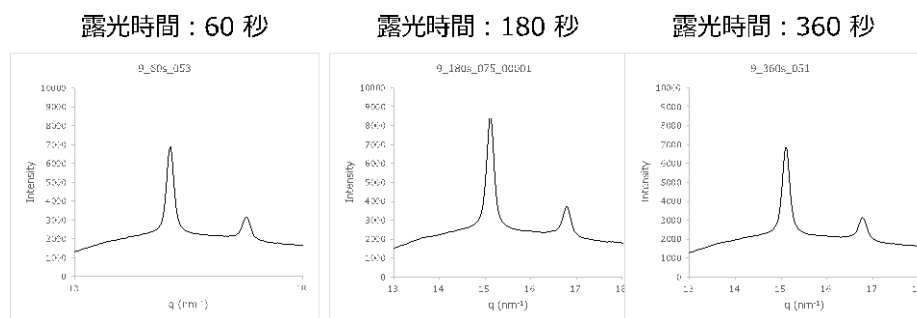


図2 露光時間に対するピーク形状の影響（広角領域、カメラ長 200 mm）

次にカメラ長 1000 mm で露光時間を 10, 60, 180, 360 秒として、小角領域 ( $q=1 \text{ nm}^{-1}$  付近) のピーク形状を観察した。その結果、露光時間 10 秒の時にはピークが乱れており、ピークトップが認識しにくかったが、60 秒の時にはピーク形状はスムーズとなり、ピークトップも認識できた。また、露光時間を 60 秒以上としてもピーク形状には大きな差はなかった。

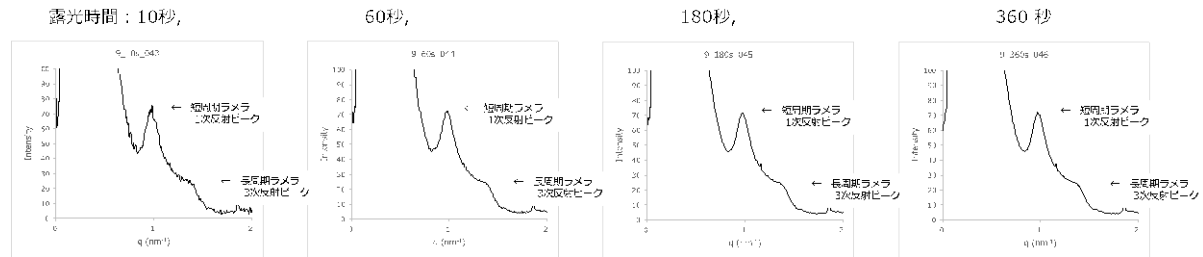


図3 露光時間に対するピーク形状の影響 (小角領域、カメラ長 1000 mm)

## 5. 今後の課題

特に大きな問題はなく、ビームタイムの確保が問題となる。Q=6~8  $\text{nm}^{-1}$  付近に現れるケラチン構造を観察できればなお良いが、現状の設備・機器では困難な模様。また、強度が負の値を示したことについては、複数のBGを測定することで改善できるものと考えている。ピーク検出(形状)はキャピラリー中のサンプルの充填度合いも関与していることを考えているので規格することも含めて検討をする。また、経時的なサンプル測定を考え、溶液セルの利用(作成)なども考慮したい。

## 6. 参考文献

The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function. J van Smeden, M Janssens, G S Gooris, J A Bouwstra. *Biochim Biophys Acta*. 1841(3):295-313 (2014).

## 7. 論文発表・特許 (注: 本課題に関連するこれまでの代表的な成果)

なし

## 8. キーワード (注: 試料及び実験方法を特定する用語を2~3)

角層細胞間脂質、ラメラ構造、充填構造、

## 9. 研究成果公開について (注: ※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文(査読付)発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください。提出期限は利用年度終了後2年以内です。例えば2018年度実施課題であれば、2020年度末(2021年3月31日)となります。)

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

① 論文(査読付)発表の報告

(報告時期: 2023年12月)